

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *Ottonia corcovadensis* MIQ. DA FLORESTA AMAZÔNICA – ATRIBUIÇÃO DOS DESLOCAMENTOS QUÍMICOS DOS ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO E CARBONO

Valdir A. Facundo

Departamento de Química, Universidade Federal de Rondônia, Br 364, km 9,5, 78900-000 Porto Velho - RO

Selene M. Morais

Departamento de Química e Física, Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana 1700, 60740-000 Fortaleza - CE

Raimundo Braz Filho*

Setor de Química de Produtos Naturais, Laboratório de Ciências Químicas, Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-600 Campos - RJ

Recebido em 22/4/03; aceito em 1/8/03

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *Ottonia corcovadensis* MIQ. FROM AMAZON FOREST – ¹H AND ¹³C CHEMICAL SHIFT ASSIGNMENTS. In an ethanolic extract of leaves of *Ottonia corcovadensis* (Piperaceae) were identified sixteen terpenoids of essential oil and the three flavonoids 3',4',5,5',7-pentamethoxyflavone (**1**), 3',4',5,7-tetramethoxyflavone (**2**) and 5-hydroxy-3',4',5',7-tetramethoxyflavone (**3**) and caffeic acid (**4**). Two amides (**5** and **6**) were isolated from an ethanolic extract of the roots. The structures were established by spectral analysis, mainly NMR (1D and 2D) and mass spectra. Extensive NMR analysis was also used to complete ¹H and ¹³C chemical shift assignments of the flavonoids and amides. The components of the essential oil were identified by computer library search, retention indices and visual interpretation of mass spectra.

Keywords: *Ottonia corcovadensis*; Piperaceae; terpenoids; flavonoids; caffeic acid; amides.

INTRODUÇÃO

A espécie *Ottonia corcovadensis* Miq. (Piperaceae) é comumente encontrada no norte e nordeste do Brasil, sendo conhecida popularmente como João brandinho. No Estado do Acre, aparece como uma das principais espécies vegetais da medicina popular, onde as folhas são usadas para tratamento de reumatismo na forma de compressa e como chá para gripe e tosse¹.

Este artigo descreve o estudo químico das folhas e das raízes de um espécime de *Ottonia corcovadensis* coletado em Porto Velho, Rondônia, Brasil. A análise do óleo essencial das folhas permitiu a identificação de dezesseis terpenóides (Tabela 1) através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Os flavonóides 3',4',5,5',7-pentametoxiflavona (**1**), 3',4',5,7-tetrametoxiflavona (**2**) e 5-diidroxiflavona (**3**) e o ácido cafeico (**4**) foram isolados do extrato etanólico das folhas, após a extração do óleo essencial por arraste de vapor. Do extrato etanólico das raízes foram isoladas as amidas piperovatina (**5**) e chingchengenamida (**6**). As estruturas dos flavonóides e das amidas foram estabelecidas com base na análise de dados espectrais, principalmente os obtidos de espectros de RMN ¹H e ¹³C (1D e 2D)² e de massas. A interpretação detalhada dos espectros 1D e 2D de RMN ¹H e ¹³C foi também utilizada na atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos três flavonóides (Tabelas 2 e 3) e das duas amidas (Tabela 4), além de permitir reconhecer a presença de todos sinais característicos da amida piperovatina (**5**) nos espectros da flavona **3** (componente predominante).

No sudeste do Brasil essa planta é conhecida como falso jaborandi, sendo suas raízes e ramos mastigados para aliviar dor de dente, devido à ação anestésica sobre a membrana mucosa da boca.

Investigação fitoquímica do extrato éter de petróleo das raízes de um espécime coletado na montanha do Corcovado, Rio de Janeiro, Brasil, registrou a presença de cinco amidas, piperovatina (**5**), piperlonguminina (**7**), corcovadina (**8**), isopiperlonguminina (**9**) e isocorcovadina (**10**). A atividade anestésica da planta foi atribuída à presença de piperovatina (**5**)³.

A região onde foi coletado o material de *Ottonia corcovadensis* para nosso estudo encontra-se inserida em condição ambiental significativamente diferente da observada na capital do Estado do Rio de Janeiro, onde foram coletadas as raízes da mesma espécie para a investigação fitoquímica anterior³.

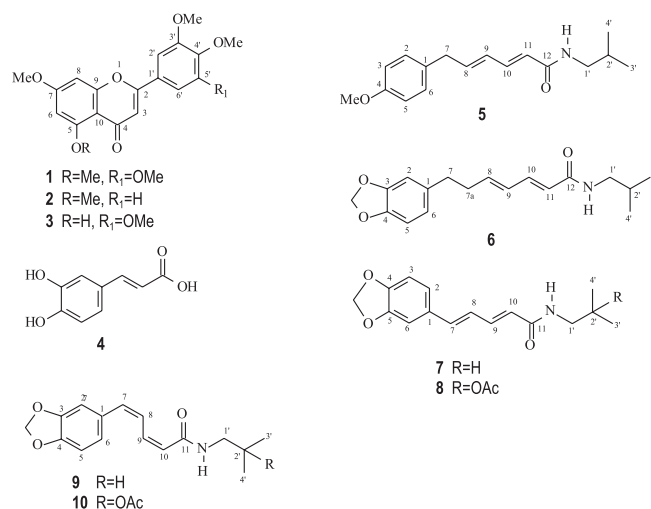


Figura 1. Substâncias naturais isoladas de *Ottonia corcovadensis*

*e-mail: braz@uenf.br

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do óleo essencial através de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG/EM), pesquisa computacional em biblioteca de substâncias Hewlett – Packard, índices de retenção e interpretação visual de espectros de massas^{4,6} possibilitou a identificação de dezesseis componentes (Tabela 1). Limoneno (12,74%), *trans*-cariofileno (13,63%), epibiciclosesquifilandreno (10,25%) e germacreno B (9,81%) destacaram-se como os componentes principais. Várias substâncias descritas como componentes dos óleos essenciais das espécies brasileiras *Piper arboreum* Aublet var. *latifolium* (CDC) e *P. hispidum*⁷ foram também encontrados em *O. corcovadensis*.

Os flavonóides 3',4',5,5',7-pentametoxiflavona (**1**) e 3',4',5,7-tetrametoxiflavona (**2**), isolados como uma mistura, foram caracterizados principalmente com base nos espectros de RMN¹H e ¹³C (Tabela 2). O espectro de RMN¹H mostrou os sinais dos átomos de hidrogênio do anel B de **1** em δ_{H} 3,79 (s, MeO-3' e MeO-5'), 3,77 (s, MeO-4') e 6,86 (s, H-2'/H-6') e de **2** em δ_{H} 3,80 (s, MeO-3'), 3,78 (s, MeO-4'), 7,08 (d, J=2,2 Hz, H-2'), 6,75, (d, J=8,6 Hz, H-5') e 7,26, (dd, J=2,2 e 8,6 Hz, H-6'). As informações fornecidas pelos espectros de RMN¹³C (¹H} e DEPT135) e 2D de correlação heteronuclear (HMQC e HMBC) confirmaram estas deduções e permitiram a atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos de todos os átomos de hidrogênio e carbono de cada uma das flavonas (**1** e **2**) presentes na mistura (Tabela 2). Com base nas intensidades relativas reveladas pela integração computacional dos sinais dos átomos

Tabela 1. Constituintes químicos do óleo essencial das folhas de *O. corcovadensis*

Constituintes	IR*	Porcentagem
β -pineno	957	6,4
Felandreno	986	7,8
<i>p</i> -cimeno	1006	3,8
Limoneno	1012	12,7
α -cubebeno	1339	1,8
α -copaeno	1364	2,5
β -elemeno	1379	1,9
<i>trans</i> -cariofileno	1406	13,6
(<i>Z</i>)- β -farneseno	1438	5,6
Aloaromadendreno	1443	1,2
<i>epi</i> -biciclosesquifelandreno	1462	10,3
Biciclogermacreno	1475	7,9
β -bisaboleno	1484	1,3
γ -cadineno	1490	2,0
δ -cadineno	1498	2,3
germacreno B	1528	9,8
Total identificado		90,9

*IR=Índices de retenção. Os constituintes estão descritos em ordem crescente de eluição em coluna não polar.

Tabela 2. Dados de RMN ¹H e ¹³C, inclusive de correlação heteronuclear ¹H-¹³C-COSY-ⁿJ_{CH} (n=1, HMQC; n=2 e 3, HMBC), de **1** e **2** em CDCl₃ e TMS como referência interna. Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J, entre parênteses) em Hz*

	1				2			
	δ_{C}	δ_{H}	² J _{CH}	³ J _{CH}	δ_{C}	δ_{H}	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
2	160,25	-	H-3	H-2', H-6'	160,42	-	H-3	2H-2', 6'
4	177,45	-	H-3	-	177,40	-	H-3	-
5	160,64	-	H-6	MeO-5	160,61	-	H-6	MeO-5
7	164,97	-	H-6, H-8	MeO-7	164,83	-	H-6, H-8	MeO-7
9	159,64	-	H-8	-	159,61	-	H-8	-
10	108,91	-	-	H-3, H-6, H-8	108,91	-	-	H-3, H-6, H-8
1'	126,49	-	H-2'/H-6'	H-3	123,68	-	H-2'	H-3, H-5'
3'	153,35	-	H-2'	MeO-3'	149,02	-	H-2'	H-5', MeO-3'
4'	140,64	-	-	2H-2',6; MeO-4'	151,57	-	H-5'	2H-2',6; MeO-4'
5'	153,35	-	H-6'	MeO-5'	-	-	-	-
CH								
3	108,49	6,41(s)	-	-	107,54	6,38 (s)	-	-
6	96,06	6,16 (d, 2,2)	-	H-8	95,96	6,15 (d, 2,2)	-	H-8
8	92,81	6,36 (d, 2,2)	-	H-6	92,76	6,34 (d, 2,2)	-	H-6
2'	103,10	6,86 (s)	-	-	108,26	7,08 (d, 2,0)	-	H-6'
5'	-	-	-	-	110,92	6,75 (d, 8,6)	-	-
6'	103,10	6,86 (s)	-	-	119,33	7,26 (dd, 8,6 e 2,0)	-	H-2'
MeO								
5	55,96	3,77(s)	-	-	55,96	3,77(s)	-	-
7	55,78	3,75 (s)	-	-	55,73	3,74(s)	-	-
3'	56,24	3,79 (s)	-	-	55,73	3,80(s)	-	-
4'	60,92	3,77 (s)	-	-	56,24	3,78(s)	-	-
5'	56,24	3,79 (s)	-	-	-	-	-	-

*Análise comparativa dos espectros de RMN¹³C-HBBD e RMN¹³C-DEPT foi usada para reconhecer os átomos de carbono quaternários, metínicos e metoxílicos. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram deduzidos dos espectros 1D de RMN¹H.

Tabela 3. Dados de RMN ¹H e ¹³C da 5-hidroxi-7,3',4',5'-tetrametoxiflavona (**3**) comparados com os valores de deslocamentos químicos dos átomos da 5,7-diidrox-3',4',5'-trimetoxiflavona⁸, em CDCl₃*

	3				5,7-diidrox-3',4',5'- trimetoxiflavona
	δ_C	δ_H	$^2J_{CH}$	$^3J_{CH}$	δ_C
C					
2	163,88	-	H-3	H-2'/H-6'	164,2
4	182,36	-	H-3		181,7
5	162,26	-	HO-5; H-6		161,4
7	165,67	-	H-6; H-8	MeO-7	163,0
9	157,76	-	H-8		157,4
10	105,69	-		H-3; HO-5; H-6; H-8	104,8
1'	126,57	-	H-2'/H-6'	H-3	125,9
3'	153,67	-	H-2'	MeO-3'	153,2
4'	141,47	-		H-2'/H-6'; MeO-4'	141,4
5'	153,67	-	H-6'	MeO-5'	153,2
CH					
3	105,69	6,58 (s)			103,9
6	98,26	6,36 (d, J=2,4)		HO-5; H-8	99,0
8	92,79	6,48 (d, J=2,4)		H-6	94,2
2',6'	103,82	7,06 (s)			104,8
MeO					
7	55,90	3,87 (s)			
3'	56,43	3,99 (s)			
4'	61,11	3,91 (s)			
5'	56,43	3,99 (s)			
HO-5	-	12,07 (s)			

*Análise comparativa dos espectros de RMN¹³C-HBBD e RMN¹³C-DEPT foi usada para reconhecer os átomos de carbono quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram deduzidos dos espectros 1D de RMN¹H.

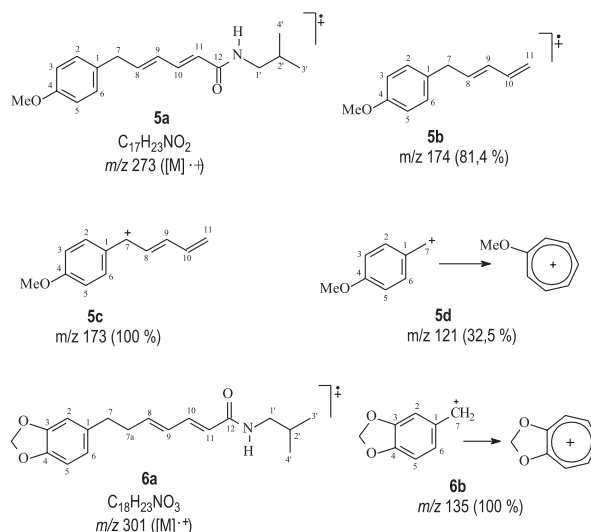
de hidrogênio H-2'/H-6' (δ_H 6,86) de **1** e H-5' (δ_H 6,75) de **2** no espectro 1D de RMN¹H da mistura calculou-se as porcentagens aproximadas das duas flavonas: 60,2% (**1**) e 39,8% (**2**).

A estrutura 5-hidroxi-3',4',5',7-tetrametoxiflavona (**3**) foi definida com base na análise dos espectros 1D e 2D de RMN¹H e ¹³C, envolvendo a comparação com dados de **2** (Tabela 2) e de RMN¹³C da 5,7-diidrox-3',4',5'-trimetoxiflavona⁸ (Tabela 3). A atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos dos átomos de hidrogênio e carbono de **3** baseou-se também em correlações a longa distância de carbono e hidrogênio ($^2J_{CH}$ e $^3J_{CH}$) observadas no espectro 2D HMBC (Tabela 3). A comparação dos dados de RMN¹³C de **3** e 5,7-diidrox-3',4',5'-trimetoxiflavona revelou efeito γ esperado do grupo metoxílico MeO-7 nos carbonos CH-6 e CH-8 (**3**), localizados em posição *orto* (Tabela 3). Após a definição estrutural da flavona **3**, foi possível verificar a presença de todos os sinais característicos da amida piperovatina (**5**) nos 1D e 2D de RMN¹H e ¹³C. O ácido cafeico (**4**) foi identificado através dos dados fornecidos pelos espectros de RMN¹H e ¹³C comparados com valores descritos na literatura⁹.

As flavonas **1**, **2** e **3** não foram encontradas em outras espécies dos gêneros *Ottonia* e *Piper*. O ácido cafeico (**4**) foi isolado de *Piper nigrum*. A espécie *O. corcovadensis* revela estreita relação botânica com espécies do gênero *Piper*. O número de flavonas isoladas de *Piper* pode ser classificado como relativamente reduzido, destacando-se flavonas tri- e tetraoxigenadas¹⁰. A 3',4',5,5,7-pentametoxiflavona (**1**) e a 3',4',5,7-tetrametoxiflavona (**2**) foram isoladas das espécies *Merrillia caloxylosa* (família Rutaceae), *Murraya paniculata* (família Rutaceae) e *Bauhinia championii* (família Leguminosae), e 5-hidroxi-3',4',5',7-tetrametoxiflavona (**3**) de *Webera corymbosa*¹¹.

As amidas **5** e **6**, isoladas como uma mistura do extrato etanólico

das raízes, foram caracterizadas através dos espectros de RMN¹H (1D e 2D ¹H-¹H-COSY), RMN¹³C (¹H) e DEPT135), HMQC e HMBC e cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. As amidas piperovatina (**5**) e chingchengenamida (**6**) revelaram, respectivamente, Tr = 11,676 e 12,742 min no cromatograma e picos correspondentes a íons moleculares em *m/z* 273 (27,9%) e 301 (9,3%) nos espectros de massas (Figura 2). O pico base em *m/z* 173 obser-

**Figura 2.** Fragmentos atribuídos aos picos principais observados nos espectros de massas das amidas naturais **5** e **6** (Figura 1)

vado no espectro de massas de **5** foi atribuído ao fragmento **5c**, sendo a localização do grupo metoxila baseada também em argumentação biogenética. O espectro de massas de **6** revelou o pico base em m/z 135 (**6b**). A análise comparativa dos espectros de RMN¹³C (¹H) e DEPT135) permitiu identificar os sinais de átomos de carbono quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos para cada uma das substâncias presentes na mistura (Tabela 4). O espectro de RMN¹H mostrou sinais de grupo isobutila em δ_H 0,92 (d, J=6,7 Hz, 3H-3' e 3H-4'), 1,79 (m, H-2') e 3,15 (t, 6,5 Hz, 2H-1'), revelando intensidades relativas compatíveis com a presença deste grupo nas moléculas dos dois componentes. Os espectros 1D de RMN¹H e ¹³C revelaram como diferença significativa entre as duas substâncias a presença de um anel aromático *para*-dissubstituído (*para*-metoxifenila) em **5** [sistema AA'BB' no espectro de RMN¹H: δ_H 7,07 (d=8,3 Hz, H-2/H-6) e 6,84 (d=8,3 Hz, H-3/H-5), além do singlete em δ_H 3,90 correspondente aos três hidrogênios do grupo metoxila; δ_C 129,81 (CH-2/CH-6), 114,20 (CH-3/CH-5) e 55,49 (MeO-4) no espectro de RMN¹³C] e um metilenedioxifenila envolvido num sistema 1,3,4-trissubstituído de **6** [sistema ABX no espectro de RMN¹H: δ_H 6,62 (sl, H-2), 6,84 (d=7,8 Hz, H-5) e 6,60 (dl, d=7,8 Hz, H-6), além do singlete em δ_H 5,92 correspondente aos dois hidrogênios do grupo metilenedioxifílico; δ_C 109,02 (CH-2), 108,96 (CH-5), 121,38 (CH-6) e 100,99 (OCH₂O) no espectro de RMN¹³C], em acordo com os fragmentos **5b**, **5c**, **5d** e **6b** deduzidos da análise dos espectros de

massas. A diferença adicional entre as amidas **5** e **6** foi justificada com relativa facilidade pela presença de mais um grupo metilênico (CH₂-7a) na cadeia carbônica de **6** ([M]⁺ 301), confirmada pelo espectro HMQC através da correlação heteronuclear indicando a interação do sinal em δ_C 35,16 (CH₂-7 e CH₂-7a) com os sinais em δ_H 2,66 (t, 2H-7) e 2,42 (q, 2H-7a). O carbono metilênico CH₂-7 (δ_C 38,48) de **5** apareceu claramente correlacionado com o sinal em δ_H 3,42 (d, J=6,1 Hz, 2H-7). O espectro 2D ¹H-¹H-COSY revelou com clareza as interações spin-spin dos átomos de hidrogênio 2H-7a (δ_H 2,42, t, J=7,4 Hz) com os 2H-7 (δ_H 2,66, q, J=7,4 Hz) e o H-8 (δ_H 6,17, s) da amida **6**. O maior δ_H dos hidrogênios 2H-7 (δ_H 3,42) de **5** pode ser justificado pela sua localização em posição recebendo a influência dos efeitos anisotrópicos do grupo arila e da ligação dupla (diretamente ligados ao CH₂-7), enquanto os 2H-7 (δ_H 2,66) sentem efeito anisotrópico do grupo arila (maior efeito anisotrópico) e 2H-7a (δ_H 2,42) de **6** da ligação dupla (menor efeito anisotrópico). Outras correlações diretas de carbono e hidrogênio (¹J_{CH}) observadas no espectro HMQC e a longa distância (²J_{CH} e ³J_{CH}) no HMBC encontram-se resumidas na Tabela 4, contendo a completa atribuição dos deslocamentos dos átomos de carbono e hidrogênio de cada uma das duas amidas (**5** e **6**). Com base na intensidade relativa do sinal dos átomos de hidrogênio do grupo OCH₂O (δ_H 5,92) de **6** e do H-2/H-6 (δ_H 7,07) de **5** foi possível calcular as percentagens aproximadas das duas isobutilamidas presentes na mistura: 54,7% de **6** e 45,3% de **5**.

Tabela 4. Dados de RMN¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) das amidas **5** e **6**, incluindo resultados obtidos de espectros de correlação heteronuclear ¹H-¹³C-COSY-ⁿJ_{CH} (n=1, HMQC; n=2 e 3, HMBC), em CDCl₃ e sinais residuais do solvente usados como referências internas (δ_H 7,26 e δ_C 70,00). Deslocamentos químicos em δ (ppm) e constantes de acoplamento (J, entre parênteses) em Hz*

	6				5			
	HMQC δ_C	δ_H	² J _{CH}	³ J _{CH}	HMQC δ_C	δ_H	² J _{CH}	³ J _{CH}
C								
1	135,29	-	2H-7	H-5; 2H-7a	131,32	-	-	H-3/H-5; H-8
3	147,79	-	H-2	H-5; OCH ₂ O	-	-	-	-
4	145,94	-	H-5	H-2; H-6; OCH ₂ O	158,39	-	H-3/H-5	H-2/H-6; MeO-4
12	166,61	-	H-11	2H-1'; H-10	166,53	-	H-11	2H-1'; H-10
CH								
2	109,02	6,62 (sl)	-	H-6; 2H-7	129,81	7,07 (d, 8,3)	-	2H-7
3	-	-	-	-	114,20	6,84 (d, 8,3)	-	-
5	108,96	6,84 (d, 7,8)	-	-	114,20	6,84 (d, 8,3)	-	-
6	121,38	6,60 (dl, 7,8)	-	H-2; 2H-7	129,81	7,07 (d, 8,3)	-	2H-7
8	141,70	6,06 (td, 15,0, 7,4)	2H-7a	2H-7; H-10	140,96	6,17 (td, 15,0, 6,1)	2H-7	H-10
9	129,10	6,14	H-8; H-10	2H-7a; H-11	129,27	6,11	H-10	2H-7; H-11
10	141,35	7,17 (dd, 15,0, 10,5)	H-9	H-8	141,19	7,20 (dd, 15,0, 10,2)	-	H-8
11	122,51	5,77 (d, 15,0)	H-10	H-9	122,92	5,80 (d)	H-10	H-9
2'	28,82	1,79 (m)	2H-1'; 3H-3'; 3H-4'	-	28,82	1,79 (m)	2H-1'; 3H-3'; 3H-4'	-
CH₂								
OCH ₂ O	100,99	5,92 (s)	-	-	-	-	-	-
7	35,16	2,66 (t, 7,4)	-	H-2; H-6	38,48	3,42(d, 6,1)	H-8	H-2/H-6; H-9
7a	35,16	2,42 (q, 7,4)	H-8	H-9	-	-	-	-
1'	47,18	3,15 (t, 6,7)	H-2'	3H-3'; 3H-4'	47,18	3,15 (t, 6,7)	H-2'	3H-3'; 3H-4'
CH₃								
MeO-4	-	-	-	-	55,49	3,90 (s)	-	-
3',4'	20,33	0,92 (d, 6,7)	H-2'	2H-1'	20,33	0,92 (d, 6,7)	H-2'	2H-1'

*Análise comparativa dos espectros de RMN¹³C-HBBD e RMN¹³C-DEPT foi usada para reconhecer os átomos de carbono quaternários, metínicos, metilênicos e metílicos. Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento (J) dos átomos de hidrogênio foram deduzidos dos espectros 1D de RMN¹H. sl=singlete largo. Sinais de átomos de hidrogênio sem indicação de multiplicidade indicam sobreposição e deslocamentos químicos deduzidos dos espectros 2D ¹H-¹H-COSY e ¹H-¹³C-COSY-ⁿJ_{CH}.

Após a atribuição inequívoca dos δ_c e δ_H de **5** e **6**, verificou-se que a piperovatina (**5**) e a chinchengenamida (**6**) foram isoladas recentemente também de *Piper piscatoru* e *P. falconare* (família Piperaceae)^{12,13}, tornando-se possível a análise comparativa dos dados de RMN¹H (400 MHz) e ¹³C (100 MHz) com os valores descritos na literatura para as duas amidas (CDCl₃). As pequenas diferenças verificadas classificam-se na faixa do erro experimental, considerando-se também a obtenção dos nossos espectros em aparelho de mais alta resolução [500 (¹H) e 125 (¹³C) MHz]. Os dados descritos na Tabela 4 servem também para confirmação dos valores da literatura^{12,13}, já que a nossa análise inclui resultados obtidos de experiências bidimensionais (2D) de correlação homonuclear (¹H-¹H-COSY) e heteronuclear [¹H-¹³C-COSY-ⁿJ_{CH} (n=1, HMQC; n=2 e 3, HMBC)].

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimentos experimentais gerais

Os espectros de RMN foram obtidos nos aparelhos Bruker - Avance 500 (¹H: 500 MHz; ¹³C: 125 MHz) e Jeol - 400 (¹H: 400 MHz; ¹³C: 100 MHz). Os espectros 1D de RMN¹H e RMN¹³C foram obtidos em condições padronizadas (detecção direta DUAL-¹H/¹³C 5 mm); as experiências 2D foram acumuladas e processadas em um computador Aspectx32 com software da Bruker; seqüências padronizadas de pulso foram usadas para os espectros ¹H-¹H-COSY (PO 45°, SW 8000 Hz, 1K x 128 aquisições e 1K x 512 no processamento); para a experiência homonuclear 2D ¹H-¹H-NOESY o programa NOESYTP (tempo de mixing 650 ms e intervalo de relaxamento 3 s) foi utilizado após a solução ser borbulhada com N₂; espectros de correlação heteronuclear 2D ¹H-¹³C-HMQC-¹J_{CH} e ¹H-¹³C-HMBC-ⁿJ_{CH} (n=2 e 3) foram obtidos com o programa INVBTP (¹J_{CH} = 145 Hz, *f*₂ 30118 Hz e *f*₁ 8012 Hz, intervalo de relaxamento 2 s) e (MJ 52 ms, ⁿJ_{CH} = 7 Hz, *f*₂ 3020 Hz e *f*₁ 8012 Hz, intervalo de relaxamento 2 s). Os espectros de massas foram registrados por impacto eletrônico (70 eV) em um aparelho GC/MS Hewlett - Packard 5971 usando coluna capilar (30 m x 0,25 mm) dimetilpolisiloxano BD-1, He como gás de arraste e as temperaturas de 250 °C no injetor, 200 °C no detector e variação de 1°/min entre 35 -180 °C e 10 °C/min entre 180 -250 °C na coluna. Nas separações cromatográficas em coluna usou-se sílica gel da Aldrich ou Merck com granulação adequada. As placas cromatográficas foram reveladas com luz UV (λ_{\max} 254 nm), vapores de iodo e/ou solução alcoólica de vanilina e ácido sulfúrico.

Planta

O material vegetal foi coletado no sítio dos nove vegetais em Porto Velho, Rondônia, Brasil. A identificação botânica foi realizada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Uma exsicata da espécie encontra-se depositada no herbário da Universidade Federal de Rondônia, Rondônia, Brasil, sob o número 032.

Extração e separação

O óleo essencial das folhas (500 g) de *O. corcovadensis* foi obtido por arraste de vapor d'água, fornecendo um óleo incolor com rendimento de 1,2%. As folhas (500 g) usadas para extração do óleo essencial foram submetidas a secagem numa temperatura entre 60 e

70 °C e extraídas com etanol na temperatura ambiente durante três dias. Destilação do etanol sob vácuo forneceu 26 g de material. Este material foi misturado com sílica gel (100 g), colocado em coluna cromatográfica e eluído sob pressão reduzida com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. A fração clorofórmica foi tratada com uma mistura de MeOH e H₂O (90:10) e mantida num refrigerador durante uma noite para eliminar principalmente a clorofila. O material praticamente livre de clorofila foi seco e cromatografado em coluna de sílica gel usando como eluentes hexano e clorofórmio em misturas de polaridade crescente, obtendo-se uma mistura dos flavonóides **1** + **2** e **3**. O ácido cafeico (**4**) foi isolado do extrato acetato de etila através de cromatografia em coluna de sílica gel usando como eluente hexano e clorofórmio em misturas de polaridade crescente.

As raízes secas e moídas (650 g) foram extraídas com etanol a temperatura ambiente durante quatro dias (2 x 3 l). A destilação do solvente sob pressão reduzida forneceu 13 g de extrato. 9 g deste extrato foram adsorvidas em 25 g de sílica gel, a mistura obtida foi colocada sobre papel de filtro num funil de Buchner adaptado num kitazato e sob pressão reduzida eluiu-se com hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol. O material obtido da solução clorofórmica (2 g) forneceu a mistura das duas isobutilamidas **5** e **6** após ser submetido a cromatografia em coluna de sílica gel, usando-se como eluentes misturas de hexano e clorofórmio em polaridade crescente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, BASA, FUNCAP e FAPERJ pelas bolsas e apoios financeiros concedidos, ao PADETEC (Parque de Desenvolvimento Tecnológico do Ceará) pela obtenção dos GC/MS, ao CENAUREMN (Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear) pelos espectros de RMN 1D e 2D e ao Dr. E. F. Guimarães, Museu Nacional do Rio de Janeiro, Brasil, pela identificação da planta.

REFERÊNCIAS

1. Van Der Berg, M. E.; Silva, M. H. L.; *Plantas Mediciniais da Amazônia, Belém, CNPq, PTU, Brasil*, 1982.
2. Breitmaier, E.; Voelter, W.; *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*, 3th ed., VCH: Weinheim, 1987.
3. Costa, S. S.; Mors, W. B.; *Phytochemistry* **1981**, *20*, 1305.
4. Alencar J. W.; Craveiro, A. A.; Matos F. J. A.; *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 890.
5. Adams R. P.; *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*, Academic Press: London, 1989.
6. Stenhagen, S.; Abrahamson, E.; McLafferty, F. W.; *Registry of Mass Spectral Data*, J. Wiley & Sons: New York, 1974.
7. Machado, S. M. F.; Militão, J. S. L.T.; Facundo, V. A.; Ribeiro, A.; Morais, S. M.; *J. Essent. Oil Res.* **1994**, *6*, 643.
8. Agrawal, P. K.; *Carbon -13 NMR of Flavonoids*, Elsevier: New York, 1989.
9. Pouchert, C. J.; Behnke, J.; *The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR Spectra*, Aldrich Chemical Company: USA, 1993, vol. 2, 1058B.
10. Parmar, V. S.; Jain, S. C.; Bisht, K. S.; Jain, R.; Taneja, P.; Jha, A.; Tyagi, O.D.; Prasad, A. K.; Wengel, J.; Olsen, C. E.; Boll, P. M.; *Phytochemistry* **1997**, *46*, 597.
11. Buckingham, J.; Macdonald, F. M.; Bradley, H. M., eds.; *Dictionary of Natural Products*, Chapman & Hall: London, 1994, vol. 4, p. 4533; vol. 5, p. 5561.
12. McFerren, M. A.; Rodriguez, E.; *J. Ethnopharmacology* **1998**, *60*, 183.
13. Stöhr, D.; J. D.; Xiao, P. G.; Bauer, R.; *J. Ethnopharmacology* **2001**, *75*, 133.